



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Evaluation of the Functional Expression of Otopetrin 1 (OTOP1), a Proton Channel, in Brown Adipocytes
Author(s)	Islam, MD Mominul
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第16953号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16953
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99798
Type	doctoral thesis
File Information	MDMominul_Islam_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：MD Mominul Islam

審査委員	主査	教授	乙黒	兼一
	副査	教授	森松	正美
	副査	教授	岡松	優子
	副査	准教授	山口	聡一郎

学位論文題名

Evaluation of the Functional Expression of Otopetrin 1 (OTOP1),
a Proton Channel, in Brown Adipocytes

(プロトンチャネルである Otopetrin 1 (OTOP1) の
褐色脂肪細胞での機能的な発現の評価)

Otopetrin 1 (OTOP1) は、味蕾の III 型味細胞における酸味受容を担うプロトン (H^+) 選択的イオンチャネルである。遺伝子発現データベース BioGPS によると、*Otop1* 遺伝子は褐色脂肪において顕著に発現する。褐色脂肪は褐色脂肪細胞から構成され、ミトコンドリアでの H^+ 勾配を利用し産熱するため、非ふるえ熱産生において重要な役割を果たす。しかし、OTOP1 が褐色脂肪細胞で機能的に発現することを示した報告はない。そこで本論文では、*Otop1* 欠損マウスを用いて褐色脂肪細胞における OTOP1 の機能的発現を明らかにすることを主要な目的とした。

第一章では、OTOP1 の機能的な発現を明らかにする実験に用いるために、化合物ライブラリーLOPAC¹²⁸⁰ から、OTOP1 の阻害剤を探索した。OTOP1 の阻害剤としては亜鉛イオン (Zn^{2+}) が用いられてきたが、mM レベルの高濃度が必要であり、より良い阻害剤が求められる。そこでホールセルパッチクランプ法を用いて、CHO-K1 細胞に過剰発現させた OTOP1 による電流を測定し、LOPAC¹²⁸⁰ の各試薬を適用してスクリーニングを行ったところ、Reactive Blue 2 が OTOP1 電流を抑制した。さらに Reactive Blue 2 の類似体を調べたところ、Cibacron Blue 3G-A がより力価の高い OTOP1 の阻害剤であった。Cibacron Blue 3G-A は、 μM レベルで阻害作用を示すと共に、 Zn^{2+} とは異なり、細胞外 pH、陰イオン組成、膜電位に左右されず、安定した阻害効果を示した。よって、Cibacron Blue 3G-A は OTOP1 機能の研究において重要な薬理学的ツールとなると考えられる。また、今後より優れた阻害剤の開発のリード化合物としても貢献する可能性がある。

第二章では、OTOP1 が褐色脂肪細胞に機能的に発現することを調べると共に、*Otop1* 欠損による褐色脂肪細胞の酸素消費量への影響を評価した。まず、野生型マウスと *Otop1* 欠損マウスの褐色脂肪の前駆細胞から分化させた褐色脂肪細胞を対象に、ホールセルパッチクランプ記録および細胞内 pH 測定を行った。ホールセルパッチクランプ記録で細胞外に酸性溶液を適用すると、野生型の褐色脂肪細胞において内向き電流が測定された。この内向き電流は *Otop1* 欠損褐色脂肪細胞では観測されなかった。また、OTOP1 阻害薬である Cibacron Blue 3G-A と Zn^{2+} によって阻害された。さらに、細胞外液の pH の変化に伴う逆転電位の変化量を測定したところ、 H^+ 電流と考えられる逆転電位の変化量を示した。以上の結果から、OTOP1 が褐色脂肪細胞の形質膜上において H^+ チャンネルとして機能していることが示された。次に、細胞内 pH 測定を行ったところ、酸性溶液の適用により野生型の褐色脂肪細胞は *Otop1* 欠損褐色脂肪細胞よりも大きな細胞内 pH の低下を示した。この結果は、細胞内が正常な状態の褐色脂肪細胞においても OTOP1 が形質膜上で活性を持って発現し、細胞内 pH に影響を与えうることを示す。

一方で、野生型マウスと *Otop1* 欠損マウスから新鮮分離した褐色脂肪細胞を用いて酸素消費量を測定したところ、OTOP1 の関与は認められなかった。マウスの体重の変化や褐色脂肪重量や、褐色脂肪における熱産生関連遺伝子や脂肪形成遺伝子の発現を比較しても *Otop1* 欠損による有意な変化はなかった。すなわち、OTOP1 の活性が褐色脂肪の機能に関与することを示す結果は得られなかった。

しかし本論文では、褐色脂肪細胞において OTOP1 が形質膜上において機能していることを初めて明らかにした。褐色脂肪における OTOP1 の役割の解明には更なる研究が必要であるが、本論文の結果に基づいて、褐色脂肪細胞における OTOP1 の機能的な発現を前提として研究を進めることができる。さらに、III 型味細胞以外の細胞で、内因性に発現する OTOP1 の活性を示した初めての報告でもあるため、褐色脂肪細胞が III 型味細胞と並んで、内因性に発現する OTOP1 の機能を研究するための有用な細胞モデルとなりえることも示唆できた。

以上、本論文の研究により、Cibacron Blue 3G-A という新しい OTOP1 阻害剤が見いだされると共に、OTOP1 が褐色脂肪細胞の形質膜で活性を持って機能的に発現していることが明らかとなった。OTOP1 の褐色脂肪細胞での生理的役割は未解明であるが、本論文の知見は今後の OTOP1 および褐色脂肪細胞の研究に貢献することが期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 MD Mominul Islam 氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。